

紫外线照射对梁平柚果皮基因表达的影响

程春振^{1,2}, 朱世平^{1,2}, 吴波^{1,2}, 阳佳位^{1,3}, 贝学军^{1,2}, 马岩岩^{1,2},
钟广炎^{1,2,*}

(¹ 西南大学园艺园林学院, 重庆 400716; ² 中国农业科学院/西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; ³ 重庆开县果品技术推广站, 重庆 405400)

摘要: 采用 SSH 技术以紫外照射的梁平柚 [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] 果皮作为实验方 (tester), 以未被照射的正常果皮作为驱动方 (driver), 构建了一个梁平柚果皮紫外诱导基因的正向差减文库。经菌液 PCR 检测后随机挑取 200 个阳性克隆测序, 获得 168 条表达序列标签 (ESTs)。比对这 168 条 ESTs, 发现有分属于 57 个基因的 114 条 ESTs 与已知基因高度同源, 54 条 ESTs 同源性较低或没有同源性。功能分析发现, 这些 ESTs 主要参与抗逆防御、生长发育、细胞凋亡、转录与翻译、细胞分化、信号传导、能量代谢、糖类及氨基酸代谢以及次生代谢等。

关键词: 柑橘; 紫外辐射; 抑制性差减杂交; 表达性序列标签; 基因聚类分析

中图分类号: S 666

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 05-0859-08

Effect of UV-B Radiation on Gene Expression in Peels of ‘Liangping’ Pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck]

CHENG Chun-zhen^{1,2}, ZHU Shi-ping^{1,2}, WU Bo^{1,2}, YANG Jia-wei^{1,3}, BEI Xue-jun^{1,2}, MA Yan-yan^{1,2},
and ZHONG Guang-yan^{1,2,*}

(¹ College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China; ² Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Southwest University, Chongqing 400712, China; ³ Kaixian Fruit Technology Extension Station, Chongqing 405400, China)

Abstract: A suppression subtractive hybridization library was successfully constructed using cDNA synthesized from RNA extracted from peels of ‘Liangping’ pummelo [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] receiving UV-B radiation as tester and non-UVB treatment as driver. Two hundred randomly-picked positive clones were sequenced, and a total of 168 EST sequences were obtained. One hundred and fourteen ESTs, involving in 57 genes, were found to share considerable homology with known genes while the rest 54 ESTs had low or even no homology with known genes. Function analysis showed that these differentially expressed genes were related to numerical cellular events such as stress-tolerance, growth and development, cell apoptosis, cell differentiation, gene transcription and translation, signaling, energy metabolism, carbohydrate and amino acid metabolism and secondary metabolism.

Key words: citrus; ultraviolet radiation; suppression subtractive hybridization; expressed sequence tags; gene ontology

收稿日期: 2011-01-21; **修回日期:** 2011-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (2011CB100600); 重庆市科技攻关计划项目 (CSTTC, 2007AA1018)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: gy_zhong@163.com)

紫外线照射对植物有着较大影响,严重时会引起植株死亡。作为植物的一种应激反应和自我保护反应,在受到紫外光照射后,植物体内抗紫外线色素如黄酮、黄酮醇、肉桂酰酯及肉桂酰花青苷等的合成会增加。这些抗紫外线色素分布于叶的上表皮,能吸收紫外线,保护 DNA,而使植株免受伤害。有关紫外辐射对植物影响的报道很多,包括光合作用(钟楚等, 2009)、类黄酮合成(梁滨和周青, 2007)、蛋白质代谢(罗丽琼等, 2006)以及细胞周期等植物生理生化过程。然而,关于紫外辐射的分子生物学效应的报道还很少。辐射能够改变细胞内相关基因的表达(Shreedhar et al., 1998)。

为从分子水平上了解柑橘植物对紫外线的应激反应,应用抑制性差减杂交(SSH)技术(Diatchenko et al., 1996),以紫外线持续照射后的梁平柚果实的果皮作为实验方(tester),以未受紫外线照射果实的果皮作为驱动方(driver),构建了一个紫外诱导表达基因的正向文库,并进行了 EST 序列分析,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

梁平柚[*Citrus grandis* (L.) Osbeck]果实于 2010 年 8 月 5 日采于重庆市梁平县合兴镇龙滩优质果品园,采摘后低温下带回实验室。先将果实用自来水清洗干净,然后用无菌水清洗 3 次,擦干后将果实分成两组,一组放于紫外灯(波长 253.7 nm,强度为 $75 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$)下分别照射 5、10 和 20 h,一组不照射。

每个处理完成后直接削取果皮作为 RNA 提取材料。果皮用液氮冷冻后保存于 -80°C 冰箱中。

1.2 文库构建

采用 Trizol 法提取总 RNA。

使用 Oligotex mRNA Mini Kit (QIAGEN) 分离 mRNA。将紫外线分别照射 5、10 和 20 h 的样品总 RNA 等量混合后作为 tester RNA,将未被照射样品的总 RNA 作为 driver RNA。按照 PCR-SELECTTM cDNA Subtraction Kit (CLONTECH) 说明书进行 cDNA 文库的构建。采用 PCR 产物回收试剂盒 (TaKaRa) 回收第 2 次 PCR 差减产物。

将纯化的 PCR 产物连接到 pMD19-T 载体,转化大肠杆菌并经蓝白斑筛选后,随机挑选阳性克隆,以试剂盒中提供的引物进行菌液 PCR 检测,排除假阳性及非单克隆,确定插入片段长度。随机挑选了 200 个阳性克隆送到北京六合华大基因科技股份有限公司进行测序。

1.3 文库差减效率的检测

文库差减效率的检测以 β -actin 基因作为指标,引物序列见表 1 (Zhang et al., 2008)。以差减和未差减 cDNA 的第 2 次 PCR 产物为模板,PCR 条件为: 94°C 30 s, 60°C 30 s, 72°C 2 min, 分别设置 18、21、24、27 和 30 个循环。

1.4 实时定量分析

采用 TaKaRa 公司生产 M-MLV 反转录试剂盒,参照说明的 $20 \mu\text{L}$ 标准反转录体系进行反转录合成 cDNA 第一链。以反转录产物为模板,进行实时定量 RT-PCR 验证,以 β -actin 基因作为内参基因,分别对编码二羟桂皮酸 3-O-转甲基酶、ACC 氧化酶、氧甾醇结合蛋白以及热激蛋白 90 (基因 1~4) 的基因进行了表达验证,引物序列见表 1。

表 1 实时定量 RT-PCR 分析所用的引物
Table 1 Primers used for Real-time RT-PCR

基因 Gene	上游引物 (5'→3') Forward (5'→3')	下游引物 (5'→3') Reverse (5'→3')
<i>β-actin</i>	CCAAGCAGCATGAAGATCAA	ATCTGCTGGAAGGTGCTGAG
1	GTTGTTGGAGATAATGGCGAAAG	AAAGAGTAACTGGCTAGGAGGCG
2	CGGCGGAATCATCTTGCTCT	ACCGAGGTTGACAACAATGGAGT
3	GTAAACATATCATCTTTGGCCTCACG	GAAGTTGTTGCCATCAGATTCTCGTT
4	TGCTTCTTAATCAACTTCCTCCATC	ACCCTAACACTTTCGGCAACAG

2 结果与分析

2.1 RNA 提取及 mRNA 纯化结果

本研究所得的 RNA 浓度较高, 28S 和 18S rRNA 条带清晰可见, 且无杂带和拖尾。应用 Oligotex mRNA Mini Kit (QIAGEN) 纯化得到的 mRNA 呈弥散状, 弥散带清晰可见, 质量较高, 可用于文库构建。

2.2 cDNA 文库构建情况

电泳结果显示差减之后的 PCR 产物为弥散状, 大小位于 200~700 bp 之间, 且多集中于 150~350 bp (图 1)。产物分离纯化后连接到 pMD19-T 载体上, 转化大肠杆菌, 经过蓝白斑筛选后挑取单菌落进行培养, 并进行菌液 PCR 验证, 结果见图 2。随机挑取 200 个阳性克隆测序, 成功获得 168 条 EST 序列。

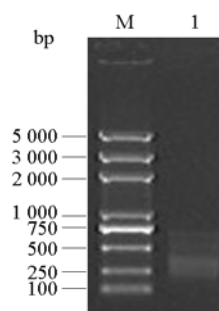


图 1 第 2 次 PCR 结果

M: Trans 2K plus DNA marker; 1: 第 2 次 PCR 产物。

Fig. 1 Second round PCR products of subtraction

M: Trans 2K plus DNA marker; 1: The second round PCR products.

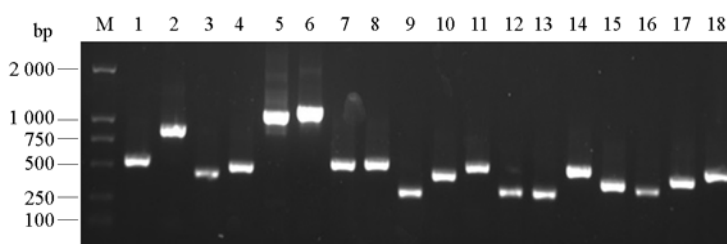


图 2 菌液 PCR 检测结果

M: DL2000 marker; 1~18: 插入不同大小片段的阳性克隆。

Fig. 2 PCR amplification of bacteria

M: DL2000 DNA marker; 1 - 18: Positive clones inserted with different sizes.

2.3 cDNA 差减效率检测

以在植物研究中常用的内参基因 *β-actin* 来检测差减效率。由图 3 可以看出, 当以未差减的 cDNA 作为模板时, *β-actin* 基因在 21 个循环就开始检出扩增产物, 而差减后的 cDNA 则在 30 个循环才有条带出现, 相差 9 个循环, 这说明所建文库差减效率高达近 2^9 倍。

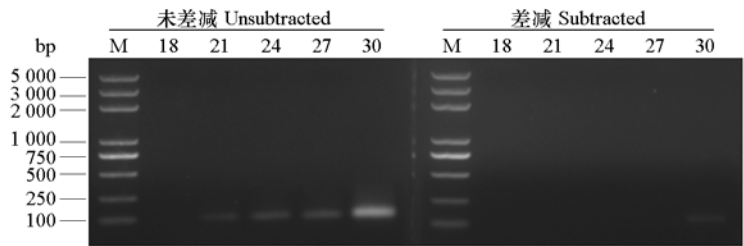


图 3 以 β -actin 基因为指标检测文库差减效率

M: *Trans* 2K marker; 18 ~ 30: 循环次数。

Fig. 3 Subtraction efficiency of subtracted cDNA by detection of β -actin gene

M: *Trans* 2K DNA marker; 18 - 30: Cycle number.

2.4 序列分析结果

测序结果显示：所得片段最短为 143 bp，最长 1 213 bp，且大多集中于 150 ~ 700 bp 之间。应用 BLAST2GO 比对分析发现，在所获得的 168 个 EST 序列中，有 114 个 ESTs 与已知基因具有较高同源性，它们分属于 57 个已知功能基因，具体结果见表 2。

表 2 EST 在核酸数据库 Blastx 搜索结果

Table 2 Results of the ESTs Blastx

序列编号 Sequence code	相关蛋白 Related protein	序列长 度/bp Sequence length	E-value	相似度 /% Similarity	物种 Species	出现频率 Frequency
E12	ACC 氧化酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	399	7.46E-10	91	<i>Elaeis guineensis</i>	1
D59	21kD 蛋白质 21 kD protein	480	9.20E-45	95	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1
D78	60S 核糖体蛋白质 L13a 60S ribosomal protein L13a	150	8.61E-43	96	<i>Glycine max</i>	2
E65	ABC 转运子家族蛋白 ABC transporter family protein	146	4.43E-15	100	<i>Trichosanthes dioica</i>	1
E73	铝胁迫诱导蛋白 Aluminum-induced protein	384	1.11E-21	100	<i>Trichosanthes dioica</i>	1
D76	5 - 芳香花青素苷酰基转移 Anthocyanin 5-aromatic	507	1.90E-13	100	<i>Trichosanthes dioica</i>	1
D36	谷胱甘肽裂解酶金属离子结合蛋白 Lactoylglutathione lyase metal ion binding	452	2.35E-19	74	<i>Pisum sativum</i>	1
E28	ATP 结合盒基因超家族蛋白 ATP-binding cassette	178	1.81E-81	97	<i>Ricinus communis</i>	3
E27	依赖 ATP 的蛋白酶水解亚基 ATP-dependent protease proteolytic subunit	288	1.13E-05	91	<i>Arabis hirsuta</i>	1
E1	二羟桂皮酸 3-O-转甲基酶 Caffeic acid 3-O-methyltransferase	355	1.22E-20	96	<i>Arabis hirsuta</i>	2
D3	过氧化氢酶 Catalase	471	1.42E-45	91	<i>Vitis vinifera</i>	1
E87	I 类几丁质酶 Class I chitinase	265	1.54E-23	100	<i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i>	3
D65	VII 类几丁质酶前体 Class VII chitinase precursor	252	5.35E-24	98	<i>Arabidopsis thaliana</i>	2
D23	保守区域蛋白质 Conserved domain protein	394	5.35E-24	98	<i>Arabidopsis thaliana</i>	2
D66	细胞色素 c 氧化酶 1 亚基 Cytochrome c oxidase subunit 1	360	3.72E-25	100	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1
E82	细胞色素 P450 Cytochrome p450	227	1.34E-19	93	<i>Populus trichocarpa</i>	1
E83	细胞色素 P450 单氧化酶 cyp72a59 Cytochrome p450 monooxygenase cyp72a59	621	6.99E-24	96	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1

续表 1

序列编号 Sequence code	相关蛋白 Related protein	序列长 度/bp Sequence length	E-value	相似度 /% Similarity	物种 Species	出现频率 Frequency
D45	脱水素 Dehydrin	420	9.29E-21	100	<i>Cupressus sempervirens</i>	1
E95	DNA 结合蛋白 DNA binding protein	246	1.12E-42	97	<i>Lilium longiflorum</i>	1
E30	延伸因子 1- α Elongation factor 1- α	198	1.41E-24	100	<i>Arabidopsis thaliana</i>	1
E31	f-box 家族蛋白 f-box family protein	187	1.19E-07	83	<i>Populus trichocarpa</i>	1
E18	铁氧化还原酶 Ferredoxin	297	4.69E-36	91	<i>Cupressus sempervirens</i>	2
E20	黄酮醇合成酶/黄酮烷 3-羟化酶 Flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	599	3.56E-44	96	<i>Ricinus communis</i>	2
E33	果糖二磷酸醛缩酶 Fructose biphosphate aldolase	318	5.69E-50	92	<i>Gossypium hirsutum</i>	1
E103	β -1, 3-葡萄糖苷酶 Glucan endo-1,3-beta-glucosidase	869	1.14E-26	100	<i>Citrus sinensis</i>	1
E105	谷胱甘肽 S 转移酶 Glutathione S-transferase GST14	527	1.20E-15	97	<i>Ranunculus macranthus</i>	1
D64	三磷酸甘油醛脱氢酶 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	224	3.56E-54	95	<i>Populus trichocarpa</i>	2
D4	胚胎发育后期丰富蛋白 Late embryogenesis-abundant protein	265	1.20E-44	97	<i>Camellia oleifera</i>	9
E15	热激蛋白 Heat shock protein 90	246	4.90E-06	70	<i>Vitis vinifera</i>	1
D14	组蛋白 H3.2 Histone H3.2	149	2.61E-10	93	<i>Populus trichocarpa</i>	1
D68	过氧化氢诱导蛋白 1 Hydrogen peroxide-induced 1	585	3.89E-92	91	<i>Gossypium hirsutum</i>	1
D9	脂质转移酶 Lipid transfer protein	249	2.60E-23	100	<i>Nicotiana tabacum</i>	1
E89	线粒体蛋白 Mitochondrial protein g00030	213	1.33E-11	85	<i>Glycine max</i>	1
D74	苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase	646	6.52E-30	98	<i>Citrus sinensis</i>	2
E4	成熟酶 k Maturase k	294	6.41E-30	98	<i>Citrus sinensis</i>	1
E86	金属硫蛋白类似蛋白 Metallothionein-like protein	530	4.12E-29	97	<i>Citrus sinensis</i>	2
D39	水通道蛋白 PIP Mip pip subfamily	629	5.72E-11	97	<i>Populus trichocarpa</i>	2
E32	o-甲基转移酶 1 o-methyltransferase 1	494	2.39E-24	93	<i>Citrus sinensis</i>	2
D94	orf174	482	2.63E-23	91	<i>Citrus sinensis</i>	1
D60	氧甾醇结合蛋白 Oxysterol-binding protein	251	2.88E-22	96	<i>Citrus sinensis</i>	1
D108	过氧化物酶 Peroxidase	306	3.41E-23	98	<i>Citrus sinensis</i>	1
D21	异黄酮还原酶类似蛋白 Phenylcoumaran benzylic ether reductase-like protein	446	8.87E-27	96	<i>Populus trichocarpa</i>	1
D86	磷酸丙酮磷酸转移蛋白前体 Phosphate triose-phosphate translocator precursor	532	9.04E-48	96	<i>Populus trichocarpa</i>	1
D67	光系统 I 组装蛋白 ycf3 Photosystem I assembly protein ycf3	258	3.66E-48	80	<i>Glycine max</i>	1
E66	光系统 II 蛋白 k Photosystem II protein k	402	2.04E-90	80	<i>Ricinus communis</i>	1
D7	质膜内在蛋白 Plasma membrane intrinsic protein	346	1.50E-50	97	<i>Ricinus communis</i>	1
E93	花粉特异蛋白 c13 Pollen-specific protein c13	167	7.57E-31	89	<i>Ricinus communis</i>	1
D115	多聚 A 结合蛋白 Poly-a binding	291	7.53E-31	88	<i>Ricinus communis</i>	2
E7	可能的质体复制起始蛋白 Probable Plasmid replication initiation protein	1 213	7.83E-15	83	<i>Ricinus communis</i>	1
E47	光系统 I 蛋白 PS I protein	342	5.08E-11	94	<i>Populus trichocarpa</i>	1
D26	Questionable orf	358	1.25E-09	76	<i>Vitis vinifera</i>	1
D97	核糖体蛋白 s12 Ribosomal protein s12	156	1.58E-12	84	<i>Vitis vinifera</i>	1
D35	活性甲硫氨酸合成酶 S-adenosylmethionine synthetase	284	1.92E-74	99	<i>Citrus x paradisi</i>	2
E64	凋亡相关蛋白 Senescence-associated protein	143	1.39E-30	68	<i>Populus trichocarpa</i>	9
E13	茎干特异蛋白 Stem-specific protein	156	6.41E-09	97	<i>Elaeis guineensis</i>	1
E85	囊泡相关蛋白 Vesicle-associated membrane	306	3.15E-45	83	<i>Vitis vinifera</i>	1
E111	CCCH 型锌指蛋白 Zinc finger (ccch-type) family protein	276	1.34E-67	100	<i>Citrus sinensis</i>	1
	功能未知蛋白 Unknown protein					24

初步分析发现这些基因主要参与植物抗逆防御、生长发育、细胞凋亡、转录与翻译、细胞分化、信号传导、能量代谢、糖类及氨基酸代谢以及次生代谢等多种生理生化过程。

进一步对这些基因进行功能分类发现,参与胁迫和内外刺激应答的占 31%,参与碳水化合物代谢的占 12%,参与酶促催化反应的占 11%,参与代谢和能量生成、中间产物生成的占 7%,参与氨基酸及其衍生物代谢的占 6%,参与次生代谢的占 6%,参与翻译和转录、发育过程(细胞生长、分裂、细胞分化、形态建成及多细胞器官发育)、形态建成以及其他方面的分别约占 13%、4%、4%和 6%。

2.5 实时定量 RT-PCR 结果

以 β -actin 基因作为内参基因,对编码二羟桂皮酸 3-O-转甲基酶、ACC 氧化酶、氧甾醇结合蛋白以及热激蛋白 90 的基因进行实时定量 RT-PCR 验证,结果如图 4 所示。

编码二羟桂皮酸 3-O-转甲基酶的基因在紫外照射 5 h 后表达量上升 1 400 多倍;编码 ACC 氧化酶的基因在紫外照射 20 h 后上调高达 100 多倍;编码热激蛋白 90 的基因表达也上调了 2 倍左右;编码氧甾醇结合蛋白的基因也略有上调。

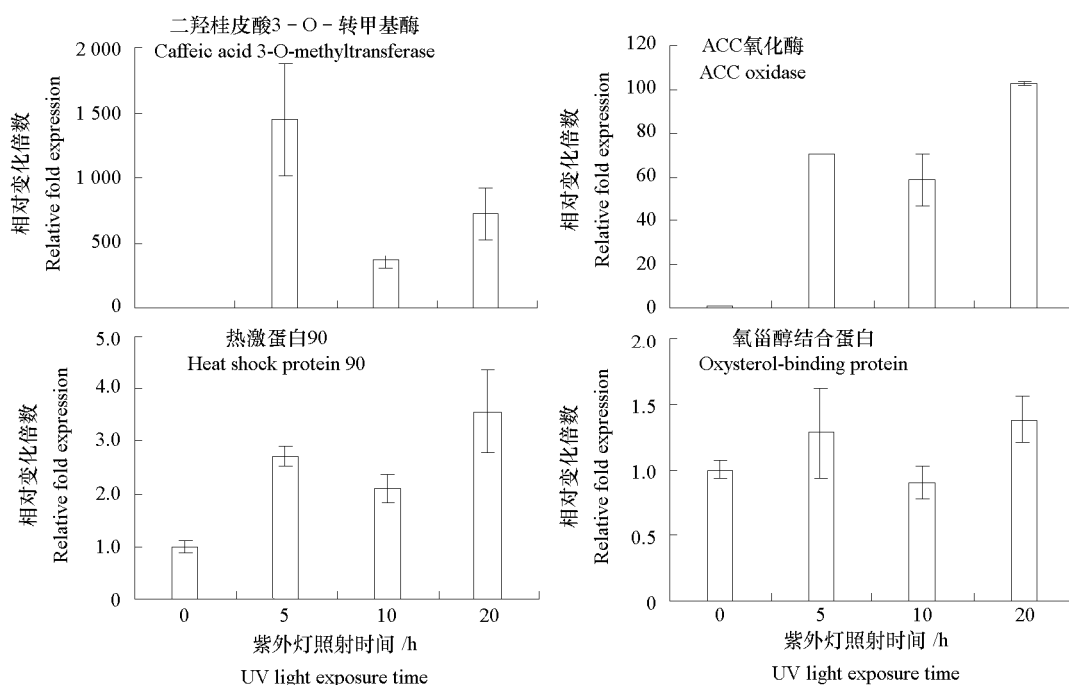


图 4 Real-time RT-PCR 结果

Fig. 4 Results of Real-time RT-PCR

3 讨论

本研究获得了梁平柚果皮中紫外诱导基因的正向差减文库,差减效率约为 2^9 倍。分析了 200 个克隆,获得了 168 条有效 EST 序列,它们分属 57 个基因。实时定量 RT-PCR 结果表明:4 个基因当中有 3 个明显被紫外辐射诱导,另外 1 个受诱导但变化不显著。

对这些基因产物功能的分析结果和相关基因的表达分析结果均表明,柑橘果皮在应对紫外辐射伤害时至少有两种方式:一是试图屏蔽紫外线,即通过上调与紫外线吸收物质的合成有关的基因的转录,如黄酮醇合成酶、氧甾醇结合蛋白、二羟桂皮酸 3-O-转甲基酶、5-芳香花青素苷酰基转移酶等基因,增加类黄酮、黄酮醇、花色素苷等化合物的含量,用以吸收紫外线,减少紫外辐射伤

害。二是积极应对伤害。

本试验中获得了多种抗逆相关基因的 EST, 表明紫外辐射激发了植物体的抗逆反应。比如, ABC 转运子蛋白中 ATP 结合盒蛋白基因产物虽然参与细胞内外的物质转运, 但业已证明该家族除与先前发现的肿瘤细胞的耐药性相关外, 还与其他多种重要的病理相关 (Ross, et al., 1998; Piet et al., 2000; Michael et al., 2001), 该基因的 EST 在差减文库中出现也可能与提高植物对紫外辐射的忍耐能力相关; 本研究结果显示 ACC 氧化酶基因被紫外辐射高度诱导, 上调达 100 多倍, ACC 氧化酶催化乙烯生物合成反应途径的最后一步, 而乙烯是机体衰老和细胞死亡的主要诱导激素 (Plinio & Joseph, 1990), 逆境下细胞凋亡是一种主动舍弃受害细胞的方式, 凋亡相关蛋白 EST 在差减文库中高频出现可能就是这一现象的表现; 病程相关蛋白 (PR protein) 参与植物受到生物或非生物逆境胁迫响应 (Linthort, 1991), 其中, 两类重要的 PR 蛋白 $\beta-1, 3$ -葡聚糖酶和几丁质酶是重要的水解酶, 在增强植物抗性方面发挥重要作用 (方玉达和刘大钧, 2003; 程红梅 等, 2005; 乔玉山 等, 2008); 热激蛋白是一类广泛存在于各种生物体中高度保守的胁迫蛋白, 热激蛋白 90 (HSP90) 的大多数底物蛋白参与细胞信号传递途径, 真核生物中的 HSP90 对细胞的存活是必不可少的 (Liu et al., 2007; 宋红苗 等, 2007; Matsuda et al., 2010)。

在紫外诱导表达的基因中, 编码乳糖谷胱甘肽裂解酶、谷胱甘肽 S-转移酶以及活性谷胱甘肽合成酶的基因与谷胱甘肽的代谢有着很大关联, 谷胱甘肽在消除自由基中起重要作用。另外细胞色素 c 氧化酶、三磷酸甘油醛脱氢酶、苹果酸脱氢酶等紫外诱导基因已知受光敏色素调控, 可能与抗紫外辐射过程中的能量需求相关。

辐射育种是柑橘育种的重要手段。但是辐射育种的效率取决于辐射对 DNA 损伤的程度。激光、紫外等的穿透距离较原子辐射短, 效率较低, 相关辐射诱导基因的表达变化可能反映了细胞以及 DNA 的受损程度, 因此有可能成为辐射育种中衡量 DNA 损伤率的分子指标, 指示诱变效率。

References

- Cheng Hong-mei, Jian Gui-liang, Ni Wan-chao, Yang Hong-hua, Wang Zhi-xing, Sun Wen-ji, Zhang Bao-long, Wang Xiao-feng, Ma Cun, Jia Shi-rong. 2005. Increase of *Fusarium*- and *Verticillium*-resistance by transferring chitinase and glucanase gene into cotton. *Scientia Agricultura Sinica*, 38 (6): 1160 - 1166. (in Chinese)
- 程红梅, 简桂良, 倪万潮, 杨红华, 王志兴, 孙文姬, 张保龙, 王晓峰, 马 存, 贾士荣. 2005. 转几丁质酶和 $\beta-1, 3$ -葡聚糖酶基因提高棉花对枯萎病和黄萎病的抗性. *中国农业科学*, 38 (6): 1160 - 1166.
- Diatchenko L, Lau Y F, Campbell A P. 1996. Suppression Subtractive hybridization: A method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Sci USA*, 93 (12): 6025-6030.
- Fang Yu-da, Liu Da-jun. 2000. Transgenic tobacco plants expressing a rice chitinase and their resistance to *Alternaria alternate*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 23 (1): 5 - 9. (in Chinese)
- 方玉达, 刘大钧. 2000. 转水稻几丁质酶基因烟草植株及其对烟草赤星病 (*Alternaria alternate*) 的抗性. *南京农业大学学报*, 23 (1): 5 - 9.
- Liang Bin, Zhou Qing. 2007. Effect of enhanced UV-B radiation on plant flavonoids. *Chinese Journal of Eco Agriculture*, 15 (3): 191 - 194. (in Chinese)
- 梁 滨, 周 青. 2007. UV-B 辐射对植物类黄酮影响的研究进展. *中国生态农业学报*, 15 (3): 191 - 194.
- Linthort H J M. 1991. Pathogenesis related proteins of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10: 123 - 150.
- Liu Dai-hua, Yuan Hao-yu, Cao Chun-ya, Gao Zhi-ping, Zhu Bing-yang, Huang Hong-lin, Liao Duan-fang. 2007. Heat shock protein 90 acts as a molecular chaperone in late-phase activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 stimulated by oxidative stress in vascular smooth muscle cells. *Acta Pharmacol Sin*, 28 (12): 1907 - 1913.
- Luo Li-qiong, Chen Zong-yu, Gu Jin, Zi Xian-neng. 2006. Effects of enhanced UV -B radiation on protein synthesis and DNA damage in plants.

- Chinese Journal of Ecology, 25 (5): 572 - 576. (in Chinese)
- 罗丽琼, 陈宗瑜, 古 今, 瞿先能. 2006. 紫外线 - B 辐射对植物 DNA 及蛋白质的影响. 生态学杂志, 25 (5): 572 - 576.
- Matsuda Minoru, Hoshino Tatsuya, Yamashita Yasuhiro, Tanaka Ken-ichiro, Maji Daisuke, Sato Keizo, Adachi Hiroaki, Sobue Gen, Ihn Hironobu, Funasaka Yoko, Mizushima Tohru. 2010. Prevention of UVB radiation-induced epidermal damage by expression of heat shock protein 70. J Biol Chem, 285 (8): 5848-5858.
- Michael Dean, Yannick Hamon, Giovanna Chimini. 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. Journal of Lipid Research, 42: 1007 - 1017.
- Piet Borst, Raymond Evers, Marcel Kool, Jan Wijnholds. 2000. A family of drug transporters: The multidrug resistance-associated proteins. Journal of the National Cancer Institute, 92 (16): 1295-1302.
- Plinio Guzman, Joseph R. Ecker. 1990. Exploring the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene related mutants. The plant cell, (2): 513 - 523.
- Qiao Yu-shan, Song Chang-nian, Qu Shen-chun, Hu Zhong-dong, Xiong Ai-sheng, Yao Quan-hong, Zhang Zhen. 2008. Cloning of cDNA for ACC oxidase from fruit of *Pyrus pyrifolia* Nakai and construction of its corresponding antisense expression vector. Acta Horticulturae Sinica, 35 (6): 799 - 804. (in Chinese)
- 乔玉山, 宋长年, 渠慎春, 胡钟东, 熊爱生, 姚泉洪, 章 镇. 2008. 砂梨果实 ACC 氧化酶 cDNA 克隆及其反义表达载体构建. 园艺学报, 35 (6): 799 - 804.
- Ross G Atkinson, Karen M Bolitho, Michele A Wright, Teresa Iturriagagoitia-Bueno, Suzanne J Reid, Gavin S Ross. 1998. Apple ACC-oxidase and polygalacturonase: Ripening-speciec gene expression and promoter analysis in transgenic tomato. Plant Molecular Biology, 38 (3): 449 - 460.
- Shreedhar Vijay, Giese Todd, Sung Victor W, Ullrich Stephen E. 1998. A cytokine cascade including prostaglandin E₂, IL-4, and IL-10 is responsible for UV-induced systemic immune suppression. The Journal of Immunology, 160: 3783 - 3789.
- Song Hong-miao, Chen Xian-yang, Li Yin-xin. 2007. Structure and function of heat shock protein 90 in plant. Plant Physiology Communications, 43(6): 1002 - 1008. (in Chinese)
- 宋红苗, 陈显扬, 李银心. 2007. 植物热激蛋白的结构和功能. 植物生理学通讯, 43 (6): 1002 - 1008.
- Zhang Jin-zhi, Li Zhi-min, Liu Li, Mei Li, Yao Jia-ling, Hu Chun-gen. 2008. Identification of early-flower-related ESTs in an early-flowering mutant of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) by suppression subtractive hybridization and macroarray analysis. Tree Physiology, 28 (10): 1449 - 1457.
- Zhong Chu, Wang Yi, Chen Zong-yu. 2009. Effects of ultraviolet B radiation on plant photosynthetic apparatus and processes of photosynthesis. Journal of Yunnan Agricultural University, 24 (6): 895 - 903. (in Chinese)
- 钟 楚, 王 毅, 陈宗瑜. 2009. UV - B 辐射对植物光合器官和光合作用过程的影响. 云南农业大学学报, 24 (6): 895 - 903.

征 订

《果品品质研究》

《果品品质研究》由关军锋主编, 是根据我国果品生产发展方向和在果品品质研究日益受到重视的前提下编写的。全书共分五篇, 第一篇系统介绍果品品质的概念、风味物质及绿色果品的生产; 第二篇着重阐述了采前果实品质的发育机理及影响因素, 如生态、水分、激素的调控及果实品质的遗传和改良; 第三篇总结了减少采后果实品质损失的策略及途径, 介绍了重要氧化酶的理化性质; 第四篇分析了主要果实生理病害的发生机理和控制途径; 第五篇介绍了果实品质的数学评价方法和常见果品品质的测定技术。定价: 30元 (含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12号中国农科院蔬菜花卉所《园艺学报》编辑部, 邮编 100081。